

**Der Wärmehaushalt weißer Mäuse
nach Blockierung der Kohlehydrat- und
Fettmobilisierung durch Nikotinsäure bzw.
Methylisoxazolcarbonsäure**

von
Bernhard M. M. Lang
aus
Bamberg



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546202_0104

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. F. Heim

**Der Wärmehaushalt weißer Mäuse
nach Blockierung der Kohlehydrat- und
Fettmobilisierung durch Nikotinsäure bzw.
Methylisoxazolcarbonsäure**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Bernhard M. M. Lang
aus
Bamberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. A. Kröncke

Referent: Prof. Dr. F. Heim

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juli 1969

A Zur Physiologie der Körpertemperaturregelung homoio-
thermer Lebewesen

Die Säugetiere als homoiotherme Lebewesen sind dadurch ausgezeichnet, daß sie unabhängig von der jeweils herrschenden Umgebungstemperatur ihre Körpertemperatur innerhalb enger Grenzen konstant halten können. Während hierbei das Gesetz der Homoiothermität nur streng für den Körperkern gilt, dessen Temperatursollwert durch einen Regelmechanismus im Zwischenhirn im Normalfall nahezu exakt eingehalten wird, unterliegt die Körperschale in gewissem Grad den Temperaturschwankungen der Umgebung und variiert hier etwa zwischen 20 bis 36 Grad. Da fast immer die Temperatur im Körperinneren höher liegt als die Umgebungstemperatur, ist der homoiotherme Organismus ständigen Wärmeverlusten ausgesetzt, die er dauernd ausgleichen muß. Dazu stehen ihm grundsätzlich zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Er kann die zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur ständig notwendige Neubildung von Wärme den jeweiligen Bedürfnissen, d.h. den Schwankungen der Außentemperatur, anpassen (sog. chemische Wärmeregulation) oder er kann die Wärmeabgabe variieren (sog. physikalische Wärmeregulation) (Hensel; Schneider; Guyton).

Solange die Außentemperatur niedriger ist als die Körpertemperatur, fließt ein Wärmestrom vom Körperinneren zur Körperoberfläche und von dieser weiter zur Umgebung. Die

Wärmeabgabe kann daher einmal durch Änderung des Wärmetransportes vom Körperkern zur Körperschale variiert werden und zum anderen durch Änderung des Wärmetransportes von der Körperoberfläche an die Umgebung. Der Wärmetransport vom Körperinneren an die Körperoberfläche hängt ab vom Temperaturgefälle zwischen Körperkern und -schale und von der mit dem Blut an die Körperoberfläche transportierten Wärme, sowie dem Wärmewiderstand der Körperschale, für die als Maß die sog. Wärmedurchgangszahl gilt (Hensel; Schneider).

Der Wärmestrom von der Körperoberfläche erfolgt durch Leitung, Konvektion und Strahlung und bei einzelnen Tierspezies auch durch Wasserverdunstung auf der Haut (Schwitzen) oder auf der Mundschleimhaut (Hecheln). Alle diese Faktoren sind abhängig vom Temperaturgradienten zwischen Haut und Außentemperatur.

Für die Wärmeabgabe durch Wärmeleitung, Konvektion und Wasserverdunstung spielt jedoch noch ein weiterer Faktor eine Rolle, nämlich die Dicke der direkt über der Haut liegenden ruhenden Luftschicht. Bei gleichem Temperaturgefälle zwischen Hautoberfläche und Umgebung wird die Wärmeabgabe pro Flächeneinheit umso geringer, je dicker diese Grenzschicht ist. Ihre Dicke ist einmal abhängig vom Radius des wärmeabgebenden Körpers (sie nimmt proportional dem Radius zu) und bei behaarten Spezies von der Dichte

des Fells. Ganz allgemein gilt, daß die Wärmeabgabe umso größer wird je kleiner der Radius des wärmeabgebenden Körpers ist. Daher sind kleine Tiere, bei denen das Verhältnis von Körperoberfläche zu Körpervolumen sehr groß ist, in besonders starkem Maße Wärmeverlusten ausgesetzt. Die Größe der wärmeabgebenden Oberfläche kann aber u.U. durch Änderung der Körperhaltung modifiziert werden (Hensel; Schneider).

Der Organismus kann - wie bereits angeführt - bei Änderungen der Außentemperatur die Wärmeabgabe variieren. So müssen z.B. bei einem Absinken der Umgebungstemperatur die Wärmeverlust möglichst gering gehalten werden, damit die Temperatur im Körperinneren nicht ebenfalls abnimmt. In einem solchen Fall kann die Wärmeabgabe dadurch eingeschränkt werden, daß die wärmeabgebende Körperoberfläche verkleinert wird, z.B. durch Zusammenkauern oder Einrollen des Körpers. Weiterhin kann bei behaarten Tierspezies durch Aufstellen der Haare (Piloerektion) die wärmeisolierende Luftschicht verdickt werden und schließlich kann durch Drosselung der Hautdurchblutung der Wärmewiderstand erhöht und die Wärmedurchgangszahl verkleinert werden. Mit einer Verminderung der Hautdurchblutung nimmt gleichzeitig der Wärmetransport vom Körperinneren zur Körperoberfläche ab (Hensel; Schneider).

Falls die Umgebungstemperatur nur um wenige Grade absinkt,

können diese Maßnahmen allein ausreichen, die Konstant-
erhaltung der Körpertemperatur zu gewährleisten. Bei ei-
nem starken Abfall der Außentemperatur sind sie jedoch
nicht wirkungsvoll genug, um die Auskühlung des Organis-
mus zu verhindern. In diesem Fall muß durch zusätzliche
Steigerung der Wärmebildung das Wärmedefizit ausgeglichen
werden (Hensel; Schneider), da ja die Wärmeproduktion
mit der Wärmeabgabe im Gleichgewicht stehen muß, soll
die Konstanz der Kerntemperatur gewährleistet sein.

Diese verstärkte Wärmebildung findet in erster Linie in
der Skelettmuskulatur statt. Da der Wirkungsgrad der Mus-
kulararbeit gering ist, geht bei jeder Form von körperlicher
Arbeit ein erheblicher Teil der aufgewendeten Energie in
Form von Wärme verloren und trägt zur Thermogenese bei.

Eine vermehrte Wärmebildung kann jedoch nicht nur über
einer Steigerung der körperlichen Arbeit, sondern auch
über andere Mechanismen erreicht werden. Hierzu gehört
u.a. eine myographisch nachweisbare reflektorische Stei-
gerung des Muskeltonus, die der Abkühlung parallel geht.
Bei stärkerer Kältebelastung reicht diese thermoregula-
torische Tonuserhöhung nicht mehr aus und es kommt zum
Kältezittern. Auf diese Weise läßt sich der Gesamtum-
satz auf etwa das 4- bis 5-fache des Ruheumsatzes stei-
gern. Das Kältezittern ist jedoch unökonomisch, da es zu-
gleich die konvektiven Wärmeverluste erhöht (Hensel; Schnei-
der).

Neben der Skelettmuskulatur nehmen auch die inneren Organe an der verstärkten Wärmebildung in nicht unerheblichem Maße teil. In erster Linie trägt dabei die Leber zu dieser als "chemische Thermogenese" bezeichneten Wärmeproduktion bei, die im wesentlichen auf einer reinen Stoffwechselsteigerung beruht. Aber auch die Muskulatur ist an der chemischen Thermogenese, bei welcher keine mechanische Tätigkeit ausgeübt wird, beteiligt (Hensel; Schneider).

Unabhängig davon, ob die Stoffwechselsteigerung mit einer Zunahme der mechanischen Arbeit der Muskulatur einhergeht oder nicht, setzt sie einen höheren Energiebedarf und damit einen erhöhten Substratumsatz in den an der Wärmebildung beteiligten Organen voraus. Die Bereitstellung der hierzu benötigten Stoffwechselsubstrate erfolgt unter der Vermittlung nervaler und hormonaler Überträgermechanismen. Besondere Bedeutung kommt dabei dem vegetativen Nervensystem, insbesondere dessen sympathischem Anteil und den Hormonen des Nebennierenmarks (Adrenalin und Noradrenalin) zu (Leduc; Symbas). Möglicherweise sind aber auch die Hormone der Schilddrüse, der Hypophyse und der Nebennierenrinde mitbeteiligt (Héroux; Maickel und Mitarb.). Erhöhung des Sympathicustonus und Freisetzung von Katecholaminen stimulieren den Abbau der Kohlenhydratreserven (Glykogen) in den an der Wärmebildung beteiligten Organen (Guyton). Darüber hinaus fördern sie die Spaltung des Neutralfetts in den Fettdepots (Westermann), wodurch in vermehrtem Maße

unveresterte Fettsäuren, die in der Leber und in der Muskulatur bis zu 80 % des Energiebedarfs decken können (Fritz et al.; Lundquist; Neptune et al.), an das Blut abgegeben und an die fettsäure-utilisierenden Organe herangebracht werden.

B Die Thermoregulation nach Ausschaltung entweder des KH-Stoffwechsels oder des Fettstoffwechsels als Energiequelle

Aus früheren, tierexperimentellen Untersuchungen ist bekannt, daß eine Blockierung des Sympathicus und Ausschaltung der Katecholamine durch Adrenalektomie, Ganglienblockade, Blockierung der adrenergen Rezeptoren usw. die Wärmebildung ganz oder teilweise verhindert und damit zu schweren Störungen der Thermoregulation führt (Berti et al.; Brück und Wünnenberg; Chatonnet et al.; Cottle u. Carlson; Estler u. Ammon; Estler et al.; Gilgen et al.; Hsieh et al.; Maickel et al.; Moore u. Underwood; Stock u. Westermann; Strubelt u. Lubenau), die darauf beruhen, daß den an der Wärmebildung beteiligten Organen nicht mehr genügend Substrat für die zur Wärmebildung führenden Stoffwechselvorgänge zur Verfügung gestellt werden kann. Da durch die genannten Maßnahmen sowohl der Fett- als auch der Kohlenhydratabbau eingeschränkt wurde, interessierte es uns, ob und wie weit die Wärmebildung und damit die Thermoregulation beeinträchtigt würde, wenn nur eine der beiden Energiequellen (Kohlenhydrate oder Fette) ausgeschaltet würde.

Zur Klärung dieser Frage wurden Versuche an weißen Mäusen durchgeführt. Diese Tierspezies eignen sich besonders gut für derartige Versuche, da sie wegen des ungünstigen Verhältnisses von Körperoberfläche zu Körpervolumen besonders

großen Wärmeverlusten ausgesetzt sind, so daß Störungen der Thermoregulation deutlich erkennbar werden. Zur Blockierung der Depotfettmobilisierung verwendeten wir das Natriumsalz der Nikotinsäure, von der bekannt ist, daß sie die Lipolyse hemmt (Carlson u. Orö). Eine Blockierung des Kohlenhydratabbaus in der Leber und im Skelettmuskel erreichten wir mit Hilfe von 3-Methylisoxazol-5-carbonsäure (MICS).

Wir setzten die mit einem der beiden Stoffwechselblocker behandelten Tiere einer Außentemperatur von 0° C aus und kontrollierten über einen Zeitraum von 4 Stunden die Rektaltemperatur.* Als Parameter für den Gesamtumsatz wurde der Sauerstoffverbrauch der Tiere gemessen. Ferner bestimmten wir den Gehalt der Leber und Skelettmuskulatur an Glykogen als Reservekohlenhydrat und die Metaboliten der Glykolyse, Brenztraubensäure und Milchsäure. Weiterhin bestimmten wir den Blutzucker und den Gehalt des Serums an unveresterten Fettsäuren, um weitere Hinweise auf die Substratversorgung der Organe zu bekommen. Als Kontrollen dienten Tiere, die anstelle der Stoffwechselblocker physiologische Kochsalzlösung erhalten hatten.

kern

* Diese kann mit der Körpertemperatur nahezu identisch gesetzt werden.

Methodik

Alle Versuche wurden mit weißen Mäusen des Inzuchtstammes NMRI durchgeführt, die vor und während des Versuches freien Zugang zu Trinkwasser und Standardfutter (Altromin R) hatten. Die Tiere waren an eine Umgebungstemperatur von 25° adaptiert.

Vor Beginn des Versuches wurden den Tieren entweder 200 µg/g Nikotinsäure in Form des Natriumsalzes (Niconacid der Firma Wander, Osthofen) oder 5 µg/g Methylisoxazolcarbonsäure i.p. injiziert. Die Kontrolltiere erhielten dasselbe Volumen physiologischer Kochsalzlösung. Unmittelbar nach der Injektion wurden die Tiere in den Kühlraum gebracht und dort für 4 Stunden bei einer Temperatur von 0° C in Glasgefäßen gehalten. Eine Kontrollgruppe verblieb bei der gewohnten Umgebungstemperatur von 25° C.

Während des Aufenthalts im Kühlraum wurde die Rektaltemperatur alle halbe Stunde thermoelektrisch mit dem Elektrothermometer der Fa. Ellab A/S. Kopenhagen kontrolliert. Der Sauerstoffverbrauch der Tiere wurde während der ersten Stunde der Kälteexposition mit Hilfe von Spirometern gemessen. Die Absorption von CO₂ und Wasserdampf erfolgte dabei an Trockenabsorber (Calciumchlorid und Natronkalk). Die Mortalitätsquote wurde in halbstündlichem Abstand durch

Zählen der überlebenden Tiere ermittelt.

Die biochemischen Untersuchungen wurden an Tieren durchgeführt, die 1 Stunde im Kühlraum verbracht hatten. Dazu wurden die Tiere durch Einfrieren in flüssiger Luft getötet. Proben von Leber- und Muskelgewebe wurden aus den gefrorenen Tieren herauspräpariert und zur Bestimmung der Metaboliten extrahiert. Für die Bestimmung des Blutzuckers und der unveresterten Fettsäuren im Serum wurde das benötigte Blut durch Dekapitieren und Ausbluten der Tiere gewonnen. Im einzelnen erfolgten die Metabolitbestimmungen nach den folgenden Methoden:

Glykogen nach der kolorimetrischen Methode von Kemp und Kits van Heijningen. Pyruvat enzymatisch nach Bücher, Lactat ebenfalls enzymatisch nach der Methode von Scholz u.M. Die Blutzuckerbestimmung erfolgte enzymatisch mit Hilfe der Glucoseoxydasemethode von Hugget und Nixon. Für die Bestimmung der freien Fettsäuren kam die kolorimetrische Methode von Duncombe zur Anwendung. Dabei wurden für die Bestimmung von Glucose, Lactat und Pyruvat die Biochemica-Test-Combinationen der Firma Boehringer-Mannheim verwendet.

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe des t-Tests von Student überprüft (Weber). Als signifikant wurden Unterschiede angesehen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit weniger als 5 % betrug. Für die statistische Auswertung der Mortalitätsquote, die in Prozent angegeben ist, wurden die zu

den einzelnen Mittelwerten gehörigen Vertrauensgrenzen statistischen Tabellen entnommen (Documenta Geigy). Die in den Abbildungen angegebenen Mittelwerte wurden aus 10 - 24 Einzelwerten berechnet.

Ergebnisse

1) Kontrolltiere:

Normale, mit physiologischer Kochsalzlösung behandelte Kontrolltiere steigern bei einer Außentemperatur von 0°C ihren Sauerstoffverbrauch von 3,1 ml/g/h auf 6,05 ml/g/h (Abb.1). Die durchschnittliche Rektaltemperatur des Kollektivs sinkt innerhalb einer Stunde um etwa 3° , innerhalb 2 Stunden um etwa $4,5^{\circ}$ ab (Abb.2). Daß es überhaupt zu einem derartigen Absinken der Körpertemperatur kommt, beruht im wesentlichen darauf, daß etwa 20 % der Tiere eines Kollektivs über eine nur ungenügende Fähigkeit zur Wärmeregulation verfügen, deshalb verhältnismäßig rasch auskühlen und eine vierstündige Kälte-Exposition nicht überleben. Die restlichen 80 % der Versuchstiere können ihre Körpertemperatur während der 4-stündigen Versuchsperiode weitgehend konstant halten und überleben die 4-stündige Kälteexposition (Abb.3).

Die Untersuchung des Intermediärstoffwechsels ergab folgende Resultate:

Der Glykogengehalt der Leber nahm während der Kälteexposition innerhalb einer Stunde um 53 % ab, während der Lactatgehalt um 45 % zunahm, der Pyruvatgehalt sank in der gleichen Zeit um 25 % ab (Abb.4). Ähnliche Verhältnisse fanden sich in der Skelettmuskulatur für Glykogen und Pyruvat. Der Gly-

kogengehalt nahm nach 1 Stunde Kälteexposition um 26 %, der Pyruvatgehalt um 44 % ab. Auch der Lactatgehalt war - nicht signifikant - um 10 % erniedrigt. (Abb.5). Der Gehalt des Serums an unveresterten Fettsäuren stieg um ca. 120 % an, der Blutzuckerspiegel war nicht signifikant erhöht (Abb.6).

2) Nikotinsäure:

Bei den mit 200 γ /g Nikotinsäure behandelten Mäusen war der durch den Kältestress ausgelöste Anstieg des Sauerstoffverbrauches um 29 % geringer als bei den Kontrolltieren. Innerhalb 1 Stunde stieg er von 3,1 nur auf 5,2 ml/g/Std. an. (Abb.1). Die Rektaltemperatur dieser Tiere unterschied sich zu keiner Zeit signifikant von der der Kontrolltiere (Abb.2). Das gleiche gilt für die Überlebensquote der mit Nikotinsäure behandelten Mäuse innerhalb der 4-stündigen Versuchszeit (Abb.3).

Der Glykogengehalt der Leber fiel während des einstündigen Aufenthaltes der Tiere in der Kälte von 189 auf 104 μ Mol Glucoseäquivalente/g Gewebe ab. Der Endwert von 104 μ Mol/g unterschied sich dabei nicht signifikant von dem Glykogengehalt der Leber der kälteexponierten Kontrolltiere, der 90 μ Mol/g betrug. Die Abnahme des Pyruvatgehaltes der Leber um 15 % war nicht signifikant. Der Lactatgehalt nahm dagegen mit 75 % stärker zu als bei den Kontrolltieren (Abb.4).

Der Abfall des Glykogengehalts in der Muskulatur war ebenso groß wie der bei den Kontrolltieren gemessene. Der Pyruvatgehalt sank nur um 18 % ab. Diese Abnahme war zwar signifikant aber deutlich geringer als bei den Kontrolltieren. Im Lactatgehalt traten ähnlich wie bei den Kontrolltieren keine signifikanten Veränderungen während der Kälteexposition auf (Abb.5). Das gleiche gilt für den Blutzuckerspiegel. Der Gehalt des Serums an unveresterten Fettsäuren stieg dagegen nur um 60 %, d.h. halb so hoch an wie bei den Kontrolltieren (Abb.6).

3) Methylisoxazolcarbonsäure:

Die mit Methylisoxazolcarbonsäure behandelten Mäuse wiesen während der einstündigen Kälteexposition eine deutlich geringere Steigerung des Sauerstoffverbrauchs (50 %) als die Kontrolltiere (95 %) auf (Abb.1). Die Rektaltemperatur der mit Methylisoxazolcarbonsäure behandelten Mäuse lag während der gesamten Versuchszeit unter der der Kontrolltiere und betrug nach 1 Stunde im Mittel $32,7^{\circ}$ und nach 2 Stunden $30,6^{\circ}$ (Abb.2). Die Mortalität war mit 47 % mehr als doppelt so groß wie die der Kontrolltiere (Abb.3).

Der Glykogengehalt der Leber fiel bei den Tieren, die Methylisoxazolcarbonsäure erhalten hatten, nach einstündiger Kälteexposition nur um 25 % ab (bei den Kontrollen betrug der Abfall des Glykogengehaltes 53 %). Im Pyruvat- und Lactat-

gehalt traten bei den mit Methylisoxazolcarbonsäure behandelten Tieren im Gegensatz zu den Kontrolltieren keine signifikanten Veränderungen ein (Abb.4).

Der Glykogengehalt der Muskulatur zeigte keine Abnahme. Die Veränderungen im Pyruvat- und Lactatgehalt entsprachen den bei den Kontrolltieren beobachteten (Abb.5). Der Blutzuckerspiegel nahm bei den mit Methylisoxazolcarbonsäure behandelten Mäusen signifikant zu und zwar um 28 mg %. Der Anstieg des Gehalts des Serums an unveresterten Fettsäuren war mit 150 % nicht geringer als bei den Kontrolltieren (Abb.6).

Diskussion

Setzt man normale, wärmeadaptierte Mäuse akut einer niedrigen Außentemperatur von 0° C aus, so setzt eine intensive Gegenregulation ein, die in Kältezittern, Piloerektion und Zusammenrollen der Tiere ihren sichtbaren Ausdruck findet. Gleichzeitig steigt der Gesamtstoffwechsel der Tiere, gemessen am Sauerstoffverbrauch, auf rund das Doppelte an. Durch das Zusammenwirken dieser wärmekonservierenden und wärmeproduzierenden Mechanismen, sind die meisten Tiere in der Lage, ihre Körpertemperatur auf nahezu normalem Niveau zu halten. Nur bei einigen Tieren ist die Wärmeregulation ungenügend, so daß deren Körpertemperatur stärker absinkt und die Tiere schließlich im Verlauf von 4 Stunden an einer Hypothermie zugrunde gehen.

Wie frühere Untersuchungen mit Blockern der adrenergen β -Rezeptoren, die die vermehrte Wärmebildung verhindern, ergeben haben, reichen bei Mäusen in sehr kalter Umgebung die noch verbleibenden, über die adrenergen α -Rezeptoren vermittelten, wärmekonservierenden Mechanismen, wie Kältezittern, Piloerektion und Änderung der Körperhaltung zur Konstanterhaltung der Körpertemperatur nicht aus (Estler und Ammon). D.h., daß bei sehr niedrigen Außentemperaturen die vermehrte Wärmebildung den entscheidenden Anteil an der Thermoregulation besitzt.

In Übereinstimmung mit der Tatsache, daß die vermehrte Wärmebildung auf einer Stoffwechselsteigerung in bestimmten Organen, vor allem der Skelettmuskulatur und Leber, beruht, nimmt der Gehalt dieser beiden Organe an Glykogen während der Kälteexposition stark ab. Das entspricht den Ergebnissen älterer Untersuchungen (Baker und Sellers; Block; Depocas und Masironi; Estler und Ammon; Estler et al.; Stoner). In der Muskulatur dient die vermehrte Spaltung von Glykogen sicherlich der Deckung des eigenen Kohlenhydratbedarfs der Muskelzellen. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Estler et al. nimmt während der Kälteexposition der Gehalt der Muskulatur an Pyruvat und Lactat, den beiden Endprodukten des glykolytischen Kohlenhydratabbaus nicht zu. Der Pyruvatgehalt nimmt sogar signifikant ab, was bei dem stark erhöhten Sauerstoffverbrauch auch nicht verwunderlich ist. Das besagt, daß offensichtlich nicht nur der anaerobe Kohlenhydratabbau beschleunigt ist, sondern auch die Überführung von Pyruvat über Acetyl-Coenzym A in den Zitronensäurezyklus. Damit können die im Zuge der Glykolyse gebildeten Kohlenhydratfragmente in verstärktem Maße dem oxydativen Abbau zugeführt werden. Bestätigt wird diese Vermutung durch Befunde von Ivanov, die zeigen, daß der Sauerstoffverbrauch der Muskulatur in der Kälte um 200-400 % ansteigen kann.

Die starke Abnahme des Glykogengehalts in der Leber spricht dafür, daß die Leber nicht nur entsprechend ihrer Aufgabe, den verschiedenen Organen des Körpers Glucose als Stoff-

wechselsubstrat zur Verfügung zu stellen, in vermehrtem Maße Glucose an das Blut abgibt, sondern einen Teil der Kohlenhydrate selbst verwertet. Dies ist mit der Vorstellung, daß eine Stoffwechselsteigerung der Leber wesentlich an der Thermogenese beteiligt ist, in Einklang zu bringen. Da der Lactatgehalt der Leber mit dem des Blutes im Gleichgewicht steht, könnte das Lactat aber auch aus dem glykolytischen Kohlehydratabbau extrohepatischer Gewebe, z.B. aus der Skelettmuskulatur stammen.

Für eine vermehrte Abgabe von Glucose aus der Leber an das Blut bieten die vorliegenden Ergebnisse keinen Anhaltspunkt. Doch wurde eine vermehrte Glucoseabgabe von Baker und Sellers, Depocas, sowie Sarajas beschrieben. Andere Autoren (Block; Drucker et al.; Estler et al.; Stoner) fanden dagegen eine Abnahme des Blutzuckerspiegels während der Kälteexposition. In den vorliegenden Untersuchungen fand sich keine signifikante Veränderung des Blutzuckerspiegels. Dieser Widerspruch erklärt sich wahrscheinlich damit, daß der Blutzuckerspiegel die Resultate aus Glucoseabgabe der Leber an das Blut und Entnahme von Glucose seitens der glucoseverwertenden Organe darstellt und daher je nach Überwiegen des einen oder anderen Faktors zu- oder abnehmen kann.

Eine weitere wesentliche Energiequelle für die Muskulatur und die Leber stellen die Fettsäuren dar. Beide Organe können bis zu 80 % ihres Energiebedarfs durch die Verbrennung

von Fettsäuren decken (Fritz et al.; Lundquist; Neptune et al.). Die Zunahme der unveresterten Fettsäuren im Serum ist der Ausdruck einer verstärkten Mobilisierung des Depotfetts, die der besseren Substratversorgung der Organe dienen soll.

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß eine Hemmung des Glykogenabbaus in der Leber und der Muskulatur zusammen mit einer Hemmung der Lipolyse im Fettgewebe, wie sie z.B. durch Eingriffe am sympathischen Nervensystem oder Blockierung der adrenergen Erregungsübertragung erreicht wird, zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Thermoregulation führt, so daß die Tiere rasch auskühlen und innerhalb weniger Stunden an einer Hypothermie sterben (Estler et al.; Maickel et al.). Um zu prüfen, ob auch eine isolierte Hemmung der Fettmobilisierung zu ähnlichen Ergebnissen führt, haben wir die Versuche mit Nikotinsäure durchgeführt.

Die Spaltung des Neutralfetts im Fettgewebe in Fettsäuren und Glycerin erfolgt bekanntlich unter der katalytischen Wirkung von Lipasen. Geschwindigkeitsbestimmend ist die Aktivität der Triglyceridlipase, die durch die Konzentration des cyclischen Nucleotids Adenosin-3', 5'-monophosphat (3,5-AMP) bestimmt wird. 3,5-AMP wird durch das Ferment Adenylcyclase, das durch verschiedene Hormone (Adrenalin, Noradrenalin, ACTH u.a.) aktiviert wird, syntheti-

siert. Sein Abbau erfolgt durch das Ferment Phosphodiesterase (Westermann).

Wie zuerst von Carlson und Orö, später auch von anderen Autoren festgestellt wurde (Westermann), hemmt die Nikotinsäure die durch Katecholamine, ACTH Methylxanthine und andere lipolytisch wirkende Pharmaka stimulierte Lipolyse. Als Angriffspunkt wurde von Krishna et al., sowie Schwabe u. Ebert eine Aktivierung der Phosphodiesterase diskutiert. Dadurch soll die Konzentration an 3,5-AMP gesenkt und die Aktivität der Triglyceridlipase vermindert werden. In unseren Versuchen schwächten 200 μ /g Nikotinsäure den Anstieg der unveresterten Fettsäuren im Serum um rund 50 % ab.

Auf die durch den Kältestress induzierte Abnahme des Glykogengehalts in der Leber und der Muskulatur hatte Nikotinsäure keinen Einfluß. Dies mag zunächst verwundern, da das den Glykogenabbau in diesen Organen katalysierende Enzym Phosphorylase in ähnlicher Weise wie die Triglyceridlipase des Fettgewebes durch 3,5-AMP aktiviert wird. Ebenso wie im Fettgewebe wird auch in der Leber und der Muskulatur 3,5-AMP durch Phosphodiesterase abgebaut. (Robison et al.), so daß man erwarten könnte, daß Nikotinsäure auch den Glykogenabbau in Muskel und Leber hemmt. Wie Untersuchungen vom Ammon u. Estler ergeben haben, ist das jedoch nicht der Fall. Ganz im Gegenteil wird bei nicht kälteexponierten Tieren der Glykogenabbau in Leber und Muskulatur durch

Nikotinsäure sogar stimuliert. Offenbar deshalb, weil vikariierend für das verminderte Angebot an unveresterten Fettsäuren im vermehrten Maße die Kohlenhydrate zur Deckung des Substratbedarfs herangezogen werden müssen.

Der Glykogengehalt der Leber und der Muskulatur der kälteexponierten, mit Nikotinsäure behandelten Tiere fällt aber auch nicht weiter ab als bei den Kontrolltieren. Das mag seine Ursache darin haben, daß bei Letzteren die Glykogenolyse bereits durch den Kältestress maximal beschleunigt ist. Für die Beobachtung, daß der Lactatgehalt der Leber und der Pyruvatgehalt der Muskulatur der mit Nikotinsäure behandelten, kälteexponierten Tiere höher lag, als der der kälteexponierten Kontrolltiere bieten unsere Befunde keine befriedigende Erklärung. Es muß jedoch erwähnt werden, daß im Kältestress weitere Substratreserven über eine Steigerung der Gluconeogenese aus Aminosäuren mobilisiert werden, die vielleicht zu einer Zunahme der Metaboliten des Kohlenhydratstoffwechsels beitragen.

Da somit unter dem Einfluß der Nikotinsäure nur die Lipolyse aber nicht die Glykogenolyse eingeschränkt ist, dürfte den mit Nikotinsäure behandelten Tieren zwar in vermindertem Maße Fettsäuren aber in normalem Umfange Kohlenhydrate zur Verfügung stehen. Wie der Sauerstoffverbrauch zeigt, bedeutet die etwa 50 %ige Hemmung der Lipolyse keine erhebliche Beeinträchtigung des Gesamtstoffwechsels. In Übereinstimmung

mit früheren Untersuchungen von Estler u. Ammon bedeutet die Einschränkung der kälteinduzierten Stoffwechselsteigerung um 29 % noch keine Beeinträchtigung der Thermoregulation, denn die Körpertemperatur der mit Nikotinsäure behandelten Tiere sinkt in der Kälte nicht tiefer ab als die der kälteexponierten Kontrolltiere. Auch die Mortalität nimmt unter der Nikotinsäurebehandlung nicht zu.

Bei den mit Methylisoxazolcarbonsäure behandelten Mäusen konnten wir feststellen, daß der Glykogengehalt der Muskulatur während der Kälteexposition überhaupt nicht abnimmt und daß die Abnahme des Glykogengehaltes der Leber nur etwa halb so groß ist wie bei den kälteexponierten Kontrolltieren. Methylisoxazolcarbonsäure hemmt also offenbar den durch die Kälte induzierten Glykogenabbau in beiden Organen. Trotzdem steigt bei den mit Methylisoxazolcarbonsäure behandelten Tieren der Blutzucker während der Kälteexposition stärker an als bei den Kontrolltieren. Dies läßt sich am ehesten damit erklären, daß die Aufnahme von Glucose in die Zellen vermindert ist. Für diese Deutung sprechen auch Befunde von Estler an methylisoxazolcarbonsäure-behandelten Mäusen in warmer Umgebung. Besonders auffällig ist, daß die Methylisoxazolcarbonsäure in unseren Versuchen den durch den Kältestress ausgelösten Anstieg der unveresterten Fettsäuren nicht abschwächt, denn nach Westermann handelt es sich bei der Kälteipolyse um eine Reaktion, die im wesentlichen durch Katecholamine ausgelöst wird. Hierfür sprechen auch Befunde von

Estler und Mitarb. mit β -Sympathicolytica. Während Methylisoxazolcarbonsäure bei Ratten, die durch Adrenalin aktivierte Lipolyse hemmt (Gerritsen u. Dulin; Schwabe et al.), ist das bei kälteexponierten weißen Mäusen nicht der Fall.

Zur Klärung dieses Widerspruches lassen sich zwei Theorien anführen. Entweder könnte es sich um Speziesunterschiede handeln in dem Sinne, daß Methylisoxazolcarbonsäure die Katecholaminlipolyse bei Mäusen nicht hemmt. Zur Stützung dieser Hypothese lassen sich die von Hasselblatt u. Poser beobachteten Speziesdifferenzen in der antilipolytischen Wirkung von Dimethylisoxazol, das in seiner Wirkung der Methylisoxazolcarbonsäure entspricht, heranziehen. Die zweite Erklärungsmöglichkeit wäre, daß Methylisoxazolcarbonsäure zwar auch bei Mäusen die Kältelipolyse abschwächt, daß aber gleichzeitig die Aufnahme und Verwertung der freigesetzten und an das Blut abgegebenen Fettsäuren in den fettsäureverbrennenden Organen vermindert ist. Zur Stützung dieser Hypothese ließe sich das Beispiel des Diabetes mellitus heranziehen. Dieses Beispiel zeigt, daß die Oxydation der Fettsäuren nur dann in ausreichendem Maße erfolgen kann, wenn gleichzeitig eine bestimmte Menge an Kohlenhydraten utilized wird. Diese Koppelung des Kohlenhydrat- und Fettabbaues beruht darauf, daß zur Einschleusung des beim Fettsäureabbaues anfallenden Acetyl-Coenzym A als Acceptor für die Citratsynthese zur Verfügung stehen muß. Das für die Citratsynthese benötigte Oxalacetat entstammt aber immer

dem Kohlenhydratabbau (Karlson). Es erscheint durchaus denkbar, daß ein ähnlicher Mechanismus wie beim Diabetes mellitus, der ja letztlich auch auf einem Mangel an intrazellulärer Glucose beruht, auch unter dem Einfluß der Methylisoxazolcarbonsäure zur Geltung kommt, der zu einer Störung der Kohlenhydratutilisation führt.

Gleichgültig, welche der beiden Theorien richtig ist, zeigen die Versuche, daß eine Störung des Kohlenhydratabbaues trotz ausreichend hohem Fettsäureangebot vom Blut her, zu einer schweren Störung der Thermogenese führt, denn die Tiere sind unter dem Einfluß der Methylisoxazolcarbonsäure nicht in der Lage, ihren Stoffwechsel um mehr als 50 % zu steigern. Die Folge davon ist ein deutliches Absinken der Körpertemperatur und eine Verdoppelung der Mortalität während des 4-stündigen Kälteaufenthaltes.

Als Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen kann somit festgestellt werden, daß eine etwa 50 %ige Hemmung der Depotfettmobilisierung dann nicht zu einer Störung der Wärmeregulation führt, wenn der Kohlenhydratabbau ungestört ist. Umgekehrt führt jedoch eine Hemmung des Kohlenhydratabbaues auch dann zu einer Störung der Thermogenese, wenn den an der Wärmebildung beteiligten Organen in ausreichendem Maße Fettsäuren mit dem Blut angeboten werden. Da die Kohlenhydratreserven im Vergleich zum Depotfett nur einen geringen Prozentsatz der gesamten Energiereser-

ven des Organismus ausmachen, ist letzterer Befund wahrscheinlich damit zu erklären, daß durch eine Störung des Kohlenhydratabbaues gleichzeitig die Verwertung der Fettsäuren und somit eine Gewinnung von Wärme beeinträchtigt wird.

C Zusammenfassung

An weißen Mäusen wurde der Einfluß von Nikotinsäure und 3-Methylisoxazolcarbonsäure auf die Thermoregulation und den der Wärmebildung zugrundeliegenden Intermediärstoffwechsel von Muskulatur und Leber untersucht. Die wärmeadaptierten Kontrolltiere reagierten auf die akute Kälteexposition mit einer Verdoppelung ihres Sauerstoffverbrauches und konnten ihre Rektaltemperatur weitgehend konstant halten. 22 % der Tiere überlebten eine 4stündige Kälteexposition^{nicht}. Die Stoffwechseluntersuchungen ergaben als wichtigste Befunde eine Abnahme des Glykogengehaltes in Muskel und Leber und eine starke Zunahme der unveresterten Fettsäuren im Serum.

200 γ /g Nikotinsäure i.p. hemmten den Anstieg des Sauerstoffverbrauches in der Kälte um 29 %. Rektaltemperatur und Mortalität der kälteexponierten Tiere unterschieden sich nicht signifikant von der der Kontrollen. Die Hemmung der Stoffwechselsteigerung ließ sich auf eine etwa 50 %ige Hemmung der Fettmobilisierung zurückführen. Die Mobilisierung der Glykogenvorräte in Leber und Muskulatur wurde durch Nikotinsäure nicht beeinträchtigt. 5 γ /g Methylisoxazolcarbonsäure verhinderten dagegen die Zunahme der unveresterten Fettsäuren im Serum nicht, blockierten aber die Glykogenolyse in Leber und Muskulatur. Dadurch kam es zu einer erheblichen Störung der Thermoregulation: Der

Sauerstoffverbrauch stieg in der Kälte nur um 50 %, die Rektaltemperatur sank stärker ab als bei den Kontrolltieren und die Mortalität stieg innerhalb 4 Stunden Kälteexposition auf 57 % an.

- Ammon, H.P.T., und Estler, C.-J.: Life Sci. 6, 641 (1967)
- Baker, D.G. und Sellers, E.A.: Amer.J.Physiol. 174, 459 (1953)
- Berti, F., Lentati, R. und Usardi, M.M.: Med. Pharmacol. exp.
13, 227 (1965)
- Block, B.P.: J.Pharm. Pharmacol. 13, 479 (1961)
- Brück, K. und Wünnenberg, B.: Pflügers Arch.ges.Physiol. 282,
376 (1965)
- Bücher. T. unveröffentlicht
- Carlson, L.A. und Orö L., Acta med.scand. 172, 641 (1962)
- Chatonnet, J., Tanche, M. und Guieu, J.D.: J.Physiol.(Paris)
53, 296 (1961)
- Depocas, F.: Fed.Proc. 19, Suppl. 5, 106 (1960)
- Depocas, F. und Masironi, R. Amer.J.Physiol. 199, 1051 (1962)
- Drucker, W.R., Kingsbury, B. und Graham, L.: Metabolism 11,
1087 (1962)
- Duncombe, W.G.: Clin.Chim.Acta 9, 122 (1964)
- Estler, C.-J.: unveröffentlicht
- Estler, C.-J. und Ammon, H.P.T.: Canad.J.Physiol.Pharmacol.
47, (1969)
- Estler, C.-J., Stubelt, O. und Ammon, H.P.T.: Pflügers Arch.
ges. Physiol. 289, 227 (1966)

- Fritz, I.B., Davis, D.C., Holtrop, R.H. und Dundee, H.:
Amer.J.Physiol. 194, 379 (1958)
- J.R.Geigy A.G.: Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, Basel 1968
- Gerritsen, G.C. und Dulin, W.E.: J.Pharm.exp. Ther. 150,
491 (1965)
- Gilgen, A., Maickel, R.P., Nikodijewic, O. und Brodie B.B.:
Life Sci. 1, 709 (1962)
- Guyton, A.C.: Textbook of Medical Physiology. Saunders,
Philadelphia /London, 1966.
- Hasselblatt, A. und Poser, W.: Arch.exp.Path.Pharmak. 250,
255 (1965)
- Hensel, H.: Temperaturregulation in Keidel, W.D.: Kurzge-
faßtes Lehrbuch der Physiologie, S. 214. Thieme,
Stuttgart, 1967
- Héroux, O. und Brauer, R.: J.Appl.Physiol. 20, 597 (1965)
- Hsieh, A.C.L., Carlson, L.D. und Gray, G.: Amer.J.Physiol.
190, 247 (1957)
- Huggett, A.S.G. und Nixon, D.A.: Lancet 273 II, 368 (1957)
- Ivanov, K.P.: Fed.Prox. 22, 737 (1963)
- Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. Thieme, Stutt-
gart, 1966
- Kemp, A. und Kits van Heijningen, A.J.M.: Biochem.J. 56,
646 (1954)

- Krishna, G., Weiss, B., Davies, J.I. und Hynie, S.: Fed.
proc. 25, 719 (1966)
- Leduc, J.: Acta physiol.scand. 53, Suppl. 183, 1 (1961)
- Lundquist, F.: Scand.J. lin.Lab.Invest. 18, Suppl. 92 (1966)
- Maickel, R.P., Matussek, N., Stern, D.N. und Brodie, B.B.:
J.Pharm.exp.Ther. 157, 103 (1967)
- Moore, R.E. und Underwood, M.C.: J.Physiol. (Lond.) 161,
30 (1962)
- Neptune, E.M.jr., Sudduth, H.C. und Foreman, D.R.: J.Biol.
Chem. 234, 1659 (1959)
- Robison, G.A., Butcher, R.W. und Sutherland, E.W.: Ann.Rev.
Biochem. 37, 149 (1968)
- Sarajas, H.S.S.: Ann.chir.gynaecol.Fenn. 51, 253 (1962)
- Schneider, M.: Physiolog-ie des Menschen. Springer, Berlin/
Göttingen/Heidelberg, 1960
- Schwabe, U. und Ebert, R.: Arch.Pharmak.exp.Path. 263, 251
(1969)
- Schwabe, U., Kerstein, E. und Hasselblatt, A.: Arch.Pharmak.
exp. Path. 260, 1 (1968)
- Scholz, R., Schmitz, H., Bücher, T. und Lampen, O.: Biochem.
Z. 331 71 (1959)
- Stock, K. und Westermann, E.: Arch.exp.Path.Pharmak. 251,
465 (1965)

Strubelt, O. und Lubenau, W.: Arch.Pharmak.exp.Path. 255,
353 (1966)

Stoner, H.B.: Fed.Proc. 22, 851 (1963)

Symbas, P.N., Jellinek, M., Cooper, T. and Hanlon, C.:
Arch.int.pharmacodyn. 150/ 132 (1964)

Weber, E.: Grundriß der biologischen Statistik. Fischer,
Stuttgart, 1967

Westermann, E.: in Klein, E.: Die Pathogenese des Diabetes
mellitus. - Die endokrine Regulation des Fett-
stoffwechsels. S. 154, Springer Berlin/Heidel-
berg/New York, 1967

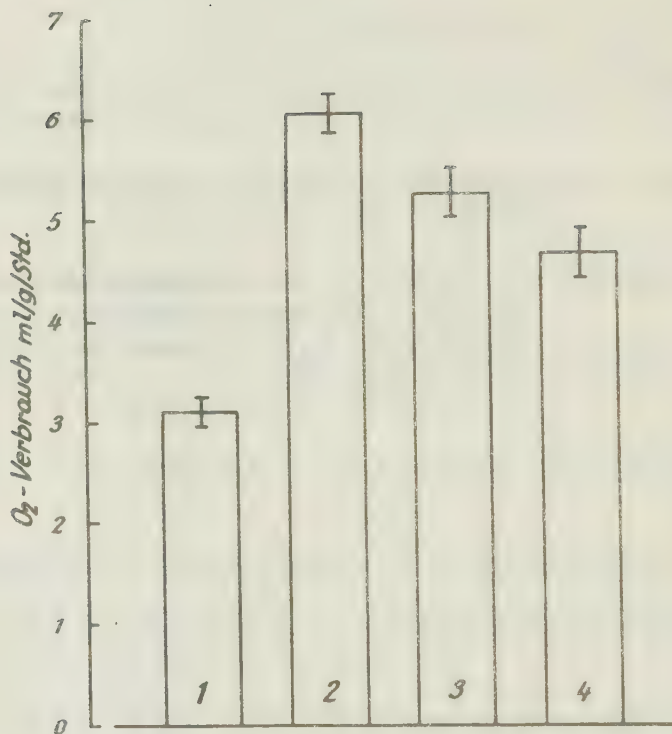


Abb. 1: Der Einfluß von Nikotinsäure und MICS auf den Sauerstoffverbrauch weißer Mäuse.
 Angegeben sind die Mittelwerte und deren Streuung.

- 1 : Kontrolltiere bei 25° C
- 2 : Kontrolltiere nach einstündiger Kälteexposition (0° C)
- 3 : Mit 200 μ /g Nikotinsäure i.p. behandelte Mäuse nach einstündiger Kälteexposition
- 4 : Mit 5 μ /g 3-Methylisoxazol-5-carbonsäure (MICS) behandelte Mäuse nach einstündiger Kälteexposition

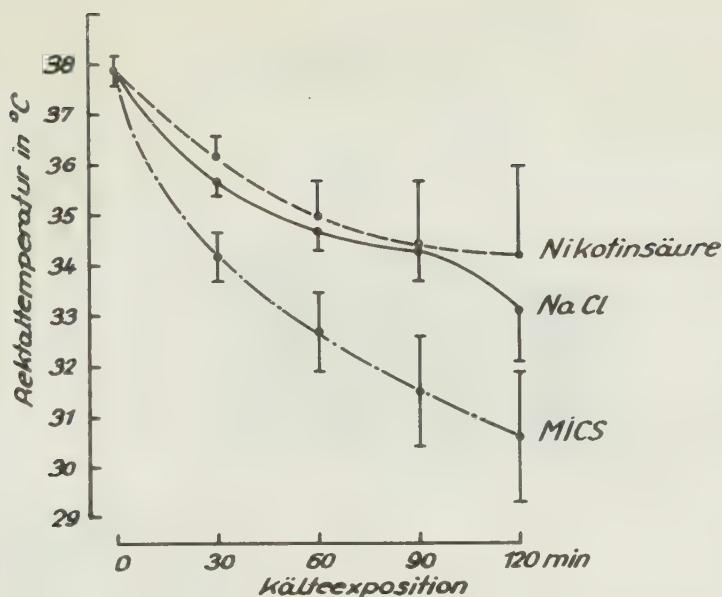


Abb. 2: Die Änderung der Rektaltemperatur unter dem Einfluß von 200 γ /g i.p. Nikotinsäure und 5 γ /g MICS, sowie bei Kontrolltieren (NaCl) im Verlauf einer zweistündigen Kälteexposition. Angegeben sind die Mittelwerte und deren Streuung.

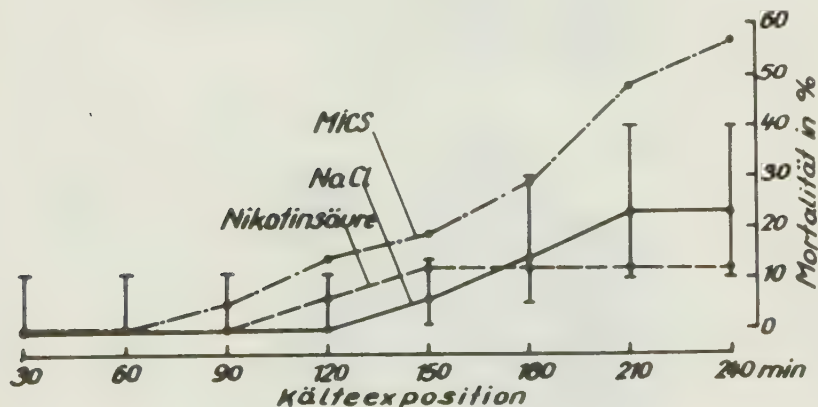


Abb. 3: Die Mortalitätsquote innerhalb einer vierstündigen Kälteexposition bei Kontrolltieren (NaCl) sowie solchen, die mit 200 γ /g Nikotinsäure i.p. bzw. 5 γ /g MICS vorbehandelt wurden. Angegeben sind die Mittelwerte und die zugehörigen Vertrauensgrenzen.

Leber

Glykogen

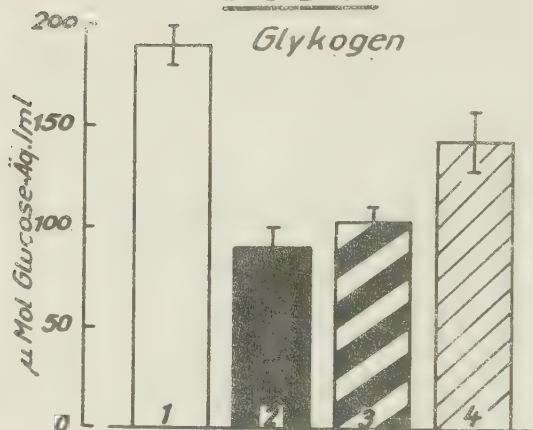
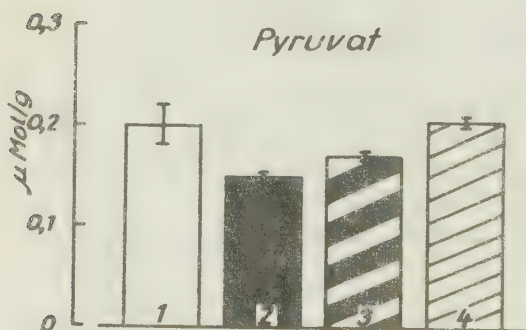


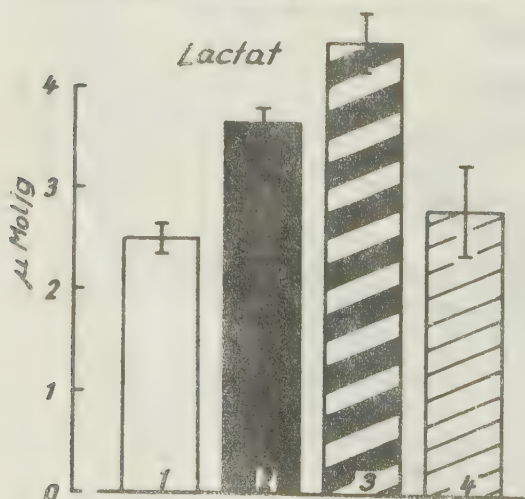
Abb. 4: Der Gehalt der Leber an Glucose, Pyruvat und Lactat nach einstündiger Einwirkung von Nikotinsäure und MICS bei 0° C.

- 1 : Kontrolltiere bei 25° C
- 2 : Kontrolltiere bei 0° C nach einstündiger Kälteexposition
- 3 : Mit 200 g/g Nikotinsäure i.p. behandelte Tiere
- 4 : Mit 5 g/g MICS behandelte Tiere.

Pyruvat



Lactat



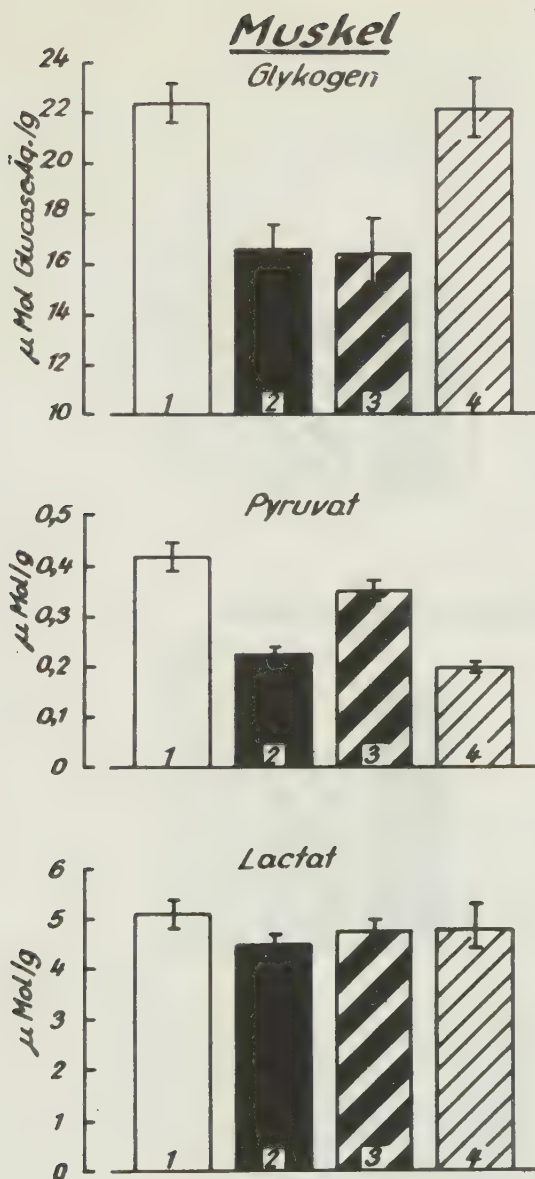


Abb. 5: Der Gehalt der Leber an Glucose, Pyruvat und Lactat nach einstündiger Einwirkung von Nikotinsäure und MICS bei 0° C.

1 : Kontrolltiere bei 25° C
 2 : Kontrolltiere bei 0° C nach einstündiger Kälteexposition
 3 : Mit 200γ/g Nikotinsäure i.p. behandelte Tiere
 4 : Mit 5γ/g MICS behandelte Tiere

Blut

Glucose

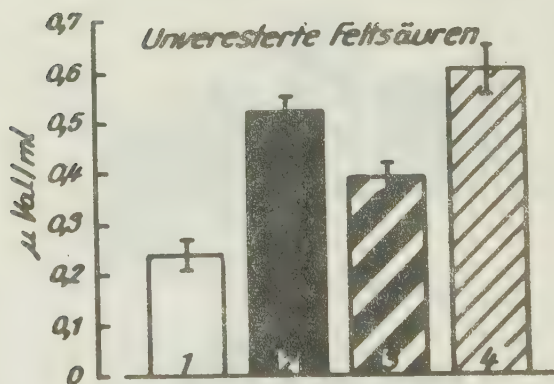
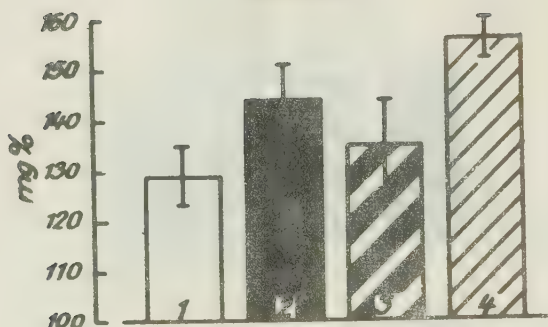


Abb. 6: Der Blutzuckerspiegel sowie der Gehalt des Serums an unveresterten Fettsäuren unter dem Einfluß von Nikotinsäure und MICS nach einstündiger Kälteexposition

- 1 : Kontrolltiere bei 25° C
- 2 : Kontrolltiere bei 0° C
- 3 : Mit 200 γ /g Nikotinsäure i.p. behandelte Tiere
- 4 : Mit 5 γ /g MICS behandelte Tiere

Herrn Prof. Dr. F. Heim, sowie
Herrn Priv.-Doz. Dr. C.-J. Estler möchte
ich danken für die Überlassung des Themas
und für die wertvolle Unterstützung bei
der Durchführung dieser Arbeit.

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Lebenslauf

Am 31.8.1938 wurde ich als erstes Kind des heutigen Gymnasial-Professors Andreas Lang und seiner Ehefrau Kathinka Lang, geb.Haupt, in Bamberg geboren. Aufgewachsen bin ich in Miltenberg, dem damaligen Dienstort meines Vaters.

Nach fünfjährigem Volksschulbesuch kam ich an die Höhere Schule und legte im Juni 1961 mein Abitur an der Oberrealschule in Gaibach ab.

Zum Krankenpflagedienst war ich 1961 und 1962 am Kreis-krankenhaus in München-Pasing. Im Wintersemester 1961/62 begann ich an der Universität Erlangen-Nürnberg das Studium der Medizin. Nach dem Physikum war ich 1965 für zwei Semester an der Universität Wien.

Nach Erlangen zurückgekehrt begann ich im Februar 1966 am Pharmakologischen Institut der Universität mit einer Promotionsarbeit. Das Staatsexamen habe ich am 24.7.68 an der Universität Erlangen-Nürnberg bestanden.

Im September 1968 trat ich meine erste Stelle als Medizinalassistent~~am~~ am Pharmakologischen Institut der Universität an, wo ich bis Ende Dezember blieb. Ich hatte dort Gelegenheit weitere tierexperimentelle Versuche für meine Promotionsarbeit vorzunehmen.

Seit Mitte Januar 1969 bin ich nun an der Nervenlinik Bamberg tätig.

Hallstadt, den 7.7.1969

Andreas Lang

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
